

- Send Results

Format  
Display Selected Free

- [illegible]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平6-336499

(43) 公開日 平成6年(1994)12月6日

(51) Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 7 K 15/06 3/12		8318-4H		
C 0 8 J 5/18	C F G	9267-4F		

審査請求 未請求 請求項の数 3 F D (全 6 頁)

(21) 出願番号	特願平5-146964	(71) 出願人	592005788 山内 清 大阪府河内長野市北青葉台27-19
(22) 出願日	平成5年(1993)5月25日	(71) 出願人	000147213 株式会社成和化成 大阪府東大阪市布市町1丁目2番14号
		(72) 発明者	山内 清 大阪府河内長野市北青葉台27-19
		(74) 代理人	弁理士 三輪 鐵雄

(54) 【発明の名称】 動物クチクル細胞由来の不溶性還元タンパク質、その製造方法および上記動物クチクル細胞由来の不溶性還元タンパク質を原料として作製された高分子成形品

(57) 【要約】

【目的】 人毛、獣毛、羽毛などの高等動物体毛のクチクル細胞由来のタンパク質を有効に利用できるようにする。

【構成】 人毛、獣毛、羽毛などの高等動物体毛を水性媒体中、タンパク質変性剤の存在下、還元剤により還元した後、可溶部を除去し、得られた不溶部を水洗して不溶部中に残存している水可溶性物質を除去して、アミノ酸100個当たりシステイン残基を2~20個有する動物クチクル細胞由来の不溶性還元タンパク質を製造する。

【効果】 上記動物クチクル細胞由来の不溶性還元タンパク質は活性なチオール基を有していて、酸化によりジスルフィド結合を生成して高分子化するので、上記不溶性還元タンパク質を原料として、フィルム、シート、カプセル、スポンジ、筒などの高分子成形品を作製することができる。そして、それらの高分子成形品は生分解性を有していて自然環境の保護に役立つ。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 人毛、獣毛、羽毛などの高等動物体毛のクチクル細胞由来のタンパク質を還元して得られるアミノ酸100個当たりシステイン残基を2〜20個有することを特徴とする、動物クチクル細胞由来の不溶性還元タンパク質。

【請求項2】 人毛、獣毛、羽毛などの高等動物体毛を水性媒体中、タンパク質変性剤の存在下で、還元剤により還元した後、可溶部を除去し、得られた不溶部を水洗して不溶部中に残存しているタンパク質変性剤や還元剤などの水可溶性物質を除去することを特徴とする請求項1記載の動物クチクル細胞由来の不溶性還元タンパク質の製造方法。

【請求項3】 請求項1の動物クチクル細胞由来の不溶性還元タンパク質を原料として作製されたフィルム、シート、カプセル、スポンジ、筒などの高分子成形品。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、動物クチクル細胞由来の不溶性還元タンパク質、その製造方法および上記動物クチクル細胞由来の不溶性還元タンパク質を原料として作製されたフィルム、シート、カプセル、スポンジ、筒などの高分子成形品に関する。

## 【0002】

【従来の技術】 人毛、羊毛などの高等動物の体毛は外層と内層に分けられる。外層はスケールと呼ばれる薄い板状のクチクル細胞であり、内層はケラチンタンパク質を主成分とするコルテックス細胞から成っている。

【0003】 上記のような高等動物体毛を還元抽出して得られるケラチンペプチドやその誘導体は、既に毛髪化粧料、繊維染色剤、繊維改質剤などの配合剤として利用されている。

【0004】 一方、高等動物体毛の10〜20重量%を占めるスケールはエキソクチクルとエンドクチクルを主成分とするが、これらのクチクル細胞由来のタンパク質は①タンパク質分子間のイソペプチド結合やホスホアミド結合によって架橋されている上に、②アミノ酸としてハーフシステインを多量に含んでいて（エキソクチクルでは全アミノ酸の20〜30モル%を占める）、タンパク質分子間をジスルフィド結合（S-S）によって架橋しているため、化学薬品に対して高い抵抗性を示し、かつ、いかなる溶媒に対しても不溶である。

【0005】 このような溶媒に対して不溶で、かつ化学薬品に対して安定であるという特性は、ケラチンを包み込んで保護する鞘（さや）としての機能を果たすには理にかなっているが、クチクル細胞由来のタンパク質を産業素材として利用しようとする試みを阻む原因となっており、これまでは廃棄するか、あるいは徹底的な加水分解を施して水溶性のペプチド断片として利用するか、土質改良剤などへの使用といった低価値の用途しか見出さ

れていないのが現状である。

## 【0006】

【発明が解決しようとする課題】 上記のように、これまで、動物クチクル細胞由来のタンパク質は、廃棄するか、あるいは低価値の用途しか見出されておらず、高等動物体毛中に10〜20重量%というかなりの量で存在しているにもかかわらず、有効に利用されていなかった。

【0007】 したがって、本発明は、動物クチクル細胞由来のタンパク質を有効に利用できるようにすることを目的とする。

## 【0008】

【課題を解決するための手段】 本発明者は、上記目的を達成するため鋭意研究を重ねた結果、クチクル細胞由来のタンパク質を含有する人毛、獣毛、羽毛などの高等動物体毛を水性媒体中、タンパク質変性剤の存在下で、還元剤により還元した後、可溶部を除去し、得られた不溶部を水洗して不溶部中に残存しているタンパク質変性剤や還元剤などの水可溶性物質を除去するときは、アミノ酸100個当たりシステイン残基を2〜20個有する不溶性還元タンパク質（以下、「還元クチクルタンパク」という）が得られることを見出し、本発明を完成するにいたった。

【0009】 上記還元クチクルタンパクは、クチクル細胞由来のタンパク質を還元処理してジスルフィド結合（S-S結合）をチオール基（SH基）へと変換したものであり、上記チオール基は反応性が高く、容易に酸化されてジスルフィド結合を再成するので、上記還元クチクルタンパクを酸化して重合させ、フィルム、シート、カプセル、スポンジ、筒などのタンパク質の高分子成形品とすることができる。

【0010】 上記還元クチクルタンパクを酸化重合させて得られる高分子は、ポリエチレンなどの石油系ポリマーとは異なり、生分解性に富んでいるので、上記のような還元クチクルタンパクから得られるフィルム、シート、カプセル、スポンジ、筒などの高分子成形品は土壌中の微生物によって速やかに分解され、自然環境の保護にも役立つという優れた特性を有している。

【0011】 つぎに、本発明における還元クチクルタンパクの製造方法、得られる還元クチクルタンパクの特性、および得られた還元クチクルタンパクを原料として作製される高分子成形品の特性などについて詳しく説明する。

【0012】 本発明において、還元クチクルタンパクの製造にあたって原料として使用する動物クチクル細胞由来のタンパク質を含有する物質としては、たとえば人毛、羊毛、馬毛、牛毛などの獣毛、鶏などの鳥類の羽毛などの高等動物体毛が挙げられる。

【0013】 還元クチクルタンパクの製造は、まず、上記のようなクチクル細胞由来のタンパク質を含有する高

等動物体毛を水性媒体中、タンパク質変性剤の存在下で、還元剤で還元する。

【0014】上記の還元剤は、動物クチクル細胞由来のタンパク質を含有する高等動物体毛のジスルフィド結合を還元してチオール基に変換する作用をするものであり、この還元剤としては、たとえば2-メルカプトエタノール、チオグリコール酸、ジチオスレイトール、ジチオエリトリトールなどのメルカプト化合物；トリプロピルホスフィン、トリブチルホスフィンなどの有機リン化合物；亜硫酸水素ナトリウムなどの還元能力を持つ無機化合物などが挙げられる。

【0015】この還元剤の使用量は、通常、高等動物体毛10gに対して0.05~0.5モルであり、還元反応の効率と経済性を考慮すると、高等動物体毛10gに対して0.05~0.2モルが好ましい。

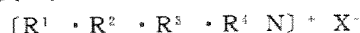
【0016】タンパク質変性剤は、タンパク質中の水素結合を切断する作用を有するもので、その具体例としては、たとえば尿素、チオ尿素などが好適なものとして挙げられる。このタンパク質変性剤の使用にあたっては、タンパク質に対して溶解作用を持つ水酸化ナトリウム、アンモニアなどのアルカリ、塩化亜鉛、ヨウ化ナトリウム、臭化ナトリウムなどの無機塩を溶解助剤として用いてもよい。

【0017】このタンパク質変性剤の濃度と使用量は、高等動物体毛の溶解性などを考慮して決定するのが適しているが、通常、高等動物体毛に対して3~10mol/l濃度のものを5~40倍重量、好ましくは5~8mol/l濃度のものを10~30倍重量である。

【0018】上記還元の際、界面活性剤を添加しておくと、還元速度が向上する。この界面活性剤としては、下記のアニオン界面活性剤、カチオン界面活性剤、両性界面活性剤、ノニオン界面活性剤のいずれも用いることができる。

【0019】アニオン界面活性剤としては、たとえばドデシル硫酸ナトリウムなどのアルキル硫酸塩、アルキル硫酸エステル塩、脂肪酸アルコールリン酸エステル塩、スルホコハク酸エステル塩などのアニオン界面活性剤が挙げられる。

【0020】カチオン界面活性剤としては、たとえば次式で示されるカチオン界面活性剤などが挙げられる。



〔式中、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  および  $R^4$  の1個または2個は直鎖もしくは分岐鎖を有する炭素数8~20のアルキル基またはヒドロキシアルキル基であり、残余は水素原子、炭素数1~3のアルキル基もしくはヒドロキシアルキル基またはベンジル基である。Xはハロゲン原子、炭素数1~2個のアルキル硫酸基またはアルキルピリジニウムハライドなどの芳香族四級アミン塩などである〕。

【0021】両性界面活性剤としては、たとえば脂肪酸アミンのN-カルボキシメチル体、N-スルホアルキル

化体、イミダゾリンスルホン酸などのベタイン系の両性界面活性剤（疎水基は主として炭素数12~14のアルキル基またはアシル基、対イオンはアルカリ金属などである）などが挙げられる。

【0022】ノニオン界面活性剤としては、たとえばポリオキシエチレンアルキルエーテル型、脂肪酸エステル型、ポリエチレンイミン型、ポリグリセリンエーテル型、ポリグリセリンエステル型などのノニオン界面活性剤（疎水基は主として炭素数12~14のアルキル基もしくはアシル基である）などが挙げられる。

【0023】そして、この界面活性剤の還元工程での使用量は高等動物体毛の5~100重量%、特に5~20重量%が好ましい。

【0024】界面活性剤としては、前記したように、アニオン界面活性剤、カチオン界面活性剤、両性界面活性剤、ノニオン界面活性剤のいずれも使用することができるが、なかでも水溶性に富むアニオン界面活性剤、たとえばアルキル硫酸塩やポリオキシエチレンアルキルエーテル硫酸塩などが特に好ましい。

【0025】上記還元工程の具体的操作は、たとえば次のようにして行われる。すなわち、高等動物体毛をその全量が浸るに充分な5~40重量倍の3~10M（mol/l）のタンパク質変性剤水溶液、たとえば尿素の場合には、5~8Mの尿素水溶液に浸漬し、還元剤または還元剤と界面活性剤を加えてから容器を密栓し、室温~100℃で1~24時間加熱攪拌する。その際の反応液のpHは5~9が好ましいが、pH12まで上げることができる。

【0026】上記還元工程において、反応系に超音波を照射すると、還元反応を促進することができ、還元工程に要する時間を短縮することができる。超音波照射はプローブ型、浴槽型などの公知の超音波照射装置を用いることができる。超音波照射の強さは反応系の大きさにより異なるが、たとえば反応系の大きさが1リットル以下のときは出力50~200Wで充分である。

【0027】上記還元により、反応物は媒体に対して可溶部と不溶部になる。そこで、上記の可溶部を遠心分離または濾過により除去することによって不溶部を分離する。この不溶部は動物クチクル細胞由来の不溶性還元タンパク質を含んでおり、可溶部は活性ケラチンと呼ばれる還元ケラチンを含んでいる。

【0028】上記不溶部は、動物クチクル細胞由来の不溶性還元タンパク質を含んでいるが、タンパク質変性剤や還元剤を含んだ水（界面活性剤を用いた場合には界面活性剤も含んでいる）によって膨潤しているので、水洗によって、上記不溶部中に残存しているタンパク質変性剤や還元剤（場合によっては界面活性剤）などの水可溶性物質を除去する必要がある。

【0029】上記水洗工程は遠心や圧縮濾過などで行うことができるが、チオール基の酸化が進行しないよう

に、脱酸素雰囲気で行うのが好ましく、また、その水洗に使用する水も、チオール基の酸化を防ぐため、たとえば2-メルカプトエタノールなどの還元剤を0.01~0.3モル/リットル程度に含んだものを使用することが好ましい。

【0030】上記のようにして得られる還元クチクルタンパクは、アミノ酸100個当たりシステイン〔-NH-CH(CH<sub>2</sub>SH)CO-〕残基を2~20個有しており、そのチオール基(SH)基が空気中の酸素や酸化剤により容易に酸化され、ジスルフィド結合(S-S結合)を生成して重合し、高分子化する。

【0031】したがって、上記のような還元、可溶部の除去、不溶部の水洗工程を経て調製された還元クチクルタンパクは、シース状であればそのまま一定の形状に重ね合わせて乾燥すれば、乾燥雰囲気中の酸素により酸化されて高分子化し、還元クチクルタンパク同士が互いに接着して水に浸漬しても溶けることのない安定なフィルム、板、筒などの任意の形状の成形品にすることができる。

【0032】また、上記還元クチクルタンパクは、ホモジナイザーやミキサー(粉碎機)で処理すれば、0.01~20mm長に細分化され流動性の粘稠な物質(固体成分1~10重量%程度)になるので、これを適当な型、形状に流して乾燥して成形することもできる。

【0033】なお、得られた還元クチクルタンパクの使用までの保存は、還元および可溶部の除去を経て得られた不溶物の水洗後、脱水し容器内に保存するか、または細分化し流動性物質として保存すればよい。

【0034】また、本発明によって得られた還元クチクルタンパクのチオール基(SH基)をヨードメトリーで定量したところ、 $0.2 \sim 2.0 \times 10^{-3} \text{ eq/g} = 500 \sim 5000 \text{ g/eq}$ であり、分子量500~5000に1個のチオール基(SH基)、すなわち、アミノ酸5~50個に1個のチオール基、換言すれば、アミノ酸100個あたり2~20個のチオール基を有するシステインが含まれていることがわかった。そして、アミノ酸分析によれば、システインを除けば、構成アミノ酸分布は原料のクチクルにほぼ一致していた。

【0035】上記乾燥に際しては自然乾燥、凍結乾燥や加熱乾燥(この加熱乾燥の場合は密な断面を有する製品

が得られる)を目的に応じて選ぶことができる。  
【0036】そして、上記の還元クチクルタンパクの高分子体は、ポリエチレンなどの生分解性のない石油系ポリマーとは異なり、生分解性に富み、土壌中の微生物によって速やかに分解される。たとえば、実施例に示すクチクルフィルム(厚さ0.03mm、横10mm、縦20mm)は25℃にて2~4カ月間で分解して消失する。したがって、使用後、投棄されることがあっても土壌中の微生物によって分解されて消失するので、自然環境の保護に役立たせることができる。

【0037】また、上記還元クチクルタンパクを成形するにあたって、成形品に柔軟性を持たせるために、グリセリン、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなどの可塑剤を用いることができるし、さらに、上記還元クチクルタンパクに還元ケラチン水溶液を混ぜて同様に成形操作をすれば、還元クチクルタンパクは還元ケラチンともジスルフィド結合(S-S結合)で架橋連結し、還元クチクルタンパクとケラチンとの混合物からなる高分子成形品にすることができる。

10 【0038】

【実施例】つぎに、実施例をあげて本発明をより具体的に説明する。ただし、本発明はそれらの実施例のみに限定されるものではない。

【0039】実施例1

羊毛(Collidale種より採取)9g、尿素55g、2-メルカプトエタノール13ml、ドデシル硫酸ナトリウム7gと水70mlを容器に入れて密栓し、60℃にて24時間振盪攪拌して還元を行った。

【0040】反応物を室温に冷してから可溶部を濾過により除去した後、不溶部を0.03モル/リットルの2-メルカプトエタノールを含んだ水で洗浄を繰り返した。水に膨潤した不溶部は、その凍結乾燥品の秤量結果から、10g当たり固体成分を0.3g含むことが判明した。

【0041】つぎに、ホモジナイザー(サンヨー社製、モデルSM-M6)で室温にて2分間処理し、粘稠な半透明な白色流動体を得た。

【0042】上記の白色流動体は還元クチクルタンパクを含有するものであるが、その還元クチクルタンパクのチオール基(SH基)をヨードメトリーで定量したところ、 $1.30 \times 10^{-3} \text{ eq/g} = 769 \text{ g/eq}$ であり、分子量769に1個のチオール(SH基)が含まれていた。

【0043】アミノ酸分析によれば、上記還元クチクルタンパクの組成は、アルギニン、リジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システインが、それぞれ4.9モル%、3.1モル%、5.0モル%、9.3モル%、11.5モル%であって、システインを除けば、構成アミノ酸分布は原料のクチクルとほぼ一致していた。

40 【0044】実施例2

20cm×25cmの長方形の羊毛布4片(重量は4片の合計で18g)に尿素110g、2-メルカプトエタノール25ml、ドデシル硫酸ナトリウム15gと水140mlを加え容器を密栓し、60℃にて24時間振盪攪拌して還元を行った。

【0045】反応物を室温に戻して可溶部を濾過により除去した後、不溶部(布の形状を保っていた)を0.03モル/リットルの2-メルカプトエタノールを含む水で繰り返し洗浄した。

50 【0046】洗浄されたシート状で膨潤状態の還元クチ

クルタンパクは、その凍結乾燥品の秤量結果から、10g当たり固体成分を0.4g含むことが判明した。

【0047】また、この還元クチクルタンパクのチオール基をヨードメトリで定量したところ、 $1.18 \times 10^{-3} \text{ eq/g} = 850 \text{ g/eq}$ であり、分子量850当たり1個のチオール基(SH基)が含まれていることがわかった。

【0048】アミノ酸分析によれば、この還元クチクルタンパクの組成は、アルギニン、リジン、アスパラギン酸、グルタミン酸、システインが、それぞれ4.7モル%、3.3モル%、5.2モル%、8.8モル%、12.4モル%であり、システインを除けば、構成アミノ酸分布は原料のクチクルとほぼ一致していた。

#### 【0049】実施例3

実施例1で得られた還元クチクルタンパクの白色流動体20mlに75%グリセリン水溶液0.6mlを加え、水平な底面をもつ円形ガラス容器(内部の平面積:100cm<sup>2</sup>)に流し込み、室温、大気中で乾燥した。その後、90℃で15分間加熱処理した後、水中に入れて円形ガラス容器から半透明フィルムを剥がした。

【0050】このフィルム(以下、「クチクルフィルム」という)の物性(厚さおよび重量)、強伸度ならび\*

\*に土壤による生分解性を調べた。物性および強伸度の測定結果を表1に示す。また、生分解性の試験結果を図1に示す。なお、強伸度の測定条件および生分解性の試験方法を次の通りである。

#### 【0051】強伸度の測定条件:

相対湿度:65%

試験片:2mm×30mm

引張速度:20cm/分

#### 【0052】生分解性の試験方法:

試験片:厚さ0.5mmで平面形状が2cm×2cmの正形状フィルム

気象条件:平成5年1月から4月までの河内長野市北青葉台27-19、発明者宅屋外

試験方法:上記場所の庭で採取した土壌を20メッシュのふるいにかけて、それを直径20cm、深さ15cmで底部に直径1.5cmの穴があいた植木鉢に入れ、その植木鉢を地面に埋め、上面より3cmの位置の深さに上記フィルムの試験片10片を埋めて、経時的に取り出し、重量減少より分解率を求める。

#### 【0053】

【表1】

	クチクルフィルム
フィルム厚さ(mm)	0.071
強度(kg/cm <sup>2</sup> )	139
破断伸度(%)	5
ヤング率(kg/cm <sup>2</sup> )	820
固体重量(mg/cm <sup>2</sup> )	8

【0054】表1に示すように、この実施例3のクチクルフィルムは、強度が139kg/cm<sup>2</sup>で、ヤング率が820kg/cm<sup>2</sup>であり、実用上十分な機械的強度を有していた。

【0055】また、図1に示すように、実施例3のクチクルフィルムは、20週間経過後に分解率が約20%に達し、生分解性ポリマーとして十分な機能を有していた。

#### 【0056】実施例4

実施例2で調製された布状(サイズ約23cm×30cm)で湿潤状態の還元クチクルタンパクをガラス製円筒(円周:6.3cm)に巻き、室温にて空気中で風乾し、さらに90℃にて15分間加熱処理した。

【0057】冷却後、水中に入れて芯部のガラス製円管を抜き出すことにより、還元クチクルタンパクの高分子

体からなる継目のない円筒状の成形品を得た。この成形品は水中に入れて煮沸しても、ほぐれることなく円筒状を保っていて、優れた耐熱性および耐水性を有していた。

#### 【0058】実施例5

実施例1で得られた還元クチクルタンパクの流動体10mlに濃度2重量%の還元ケラチン水溶液10mlと75%グリセリン水溶液を加え、よく混合してから、水平なポリエチレン板上に面積28cm<sup>2</sup>にて展開した。

【0059】室温、大気中にて乾燥後、90℃で15分間加熱処理し、冷やしてから水中に入れると、フィルムがポリエチレン板上から剥離してきた。

【0060】このフィルム(以下、「クチクル/ケラチンフィルム」という)の物性(厚さおよび重量)、強伸度ならびに土壤による生分解性を調べた。物性および強

伸度の測定結果を表2に示す。

【0061】また、生分解性の試験結果を図2に示す。  
なお、強伸度の測定条件および生分解性の試験方法は前記実施例3の場合と同様である。ただし、生分解性の試\*

\*験において、試験片の厚さは0.35mmにした。

【0062】

【表2】

	クチクル/ケラチンフィルム
フィルム厚さ (mm)	0.095
強度 (kg/cm <sup>2</sup> )	95
破断伸度 (%)	6
ヤング率 (kg/cm <sup>2</sup> )	681
固体重量 (mg/cm <sup>2</sup> )	13.5

【0063】表2に示すように、この実施例5のクチクル/ケラチンフィルムも、強度が83kg/cm<sup>2</sup>で、ヤング率が681kg/cm<sup>2</sup>であり、ポリ塩化ビニル（ただし、可塑剤入り）や低密度ポリエチレン並の機械的強度を有していた。

【0064】また、図2に示すように、実施例5のクチクル/ケラチンフィルムは、20週間経過後には分解率が約30%に達し、生分解性ポリマーとして十分な機能を有していた。

【0065】

【発明の効果】以上説明したように、本発明によれば、高等動物体毛を水性媒体中、タンパク質変性剤の存在下で、還元剤により還元した後、可溶部を除去し、得られた不溶部を水洗して不溶部中に残存しているタンパク質変性剤や還元剤などの水可溶性物質を除去することによって、アミノ酸100個当たりシステイン残基を2~20個有する動物クチクル由来の不溶性還元タンパク質（つまり、還元クチクルタンパク）を得ることができ

る。

【0066】上記還元クチクルタンパクは、活性なチオール基（SH基）を有しており、空気中の酸素や酸化剤により酸化されてジスルフィド結合（S-S結合）を生成して、高分子化するので、それを利用して、タンパク質のフィルム、シート、カプセル、スポンジ、筒などの高分子成形品を作製することができる。

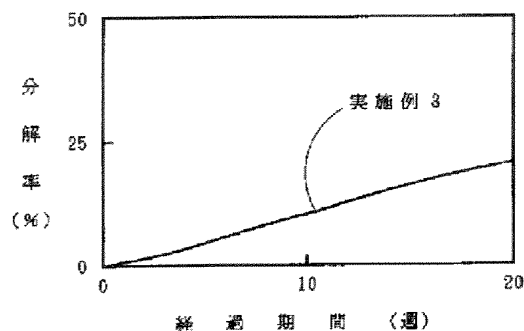
【0067】上記還元クチクルタンパクの高分子体は、生分解性を有しているので、上記還元クチクルタンパクを原料として作製された高分子成形品は、投棄された場合、微生物によって分解するので、自然環境の保護に役立つ。

【図面の簡単な説明】

【図1】実施例3で得られたフィルムの生分解性を示す図である。

【図2】実施例5で得られたフィルムの生分解性を示す図である。

【図1】



【図2】

